

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-327900

(43) 公開日 平成10年(1998)12月15日

(51) Int.Cl.⁸

識別記号

F I

C 1 3 K 13/00

C 1 3 K 13/00

C 1 2 P 19/14

C 1 2 P 19/14

A

Document 7)

(JP-A-10-327900)

審査請求 有 請求項の数 2 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-160420

(22) 出願日 平成9年(1997)6月2日

(71) 出願人 000001144

工業技術院長

東京都千代田区霞が関1丁目3番1号

(71) 出願人 597085947

坂木 剛

佐賀県鳥栖市本町2-63-8

(71) 出願人 597085958

柴田 昌男

福岡県小郡市小郡418-1 D-105

(74) 指定代理人 工業技術院九州工業技術研究所長

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水溶性オリゴ糖類及び単糖類の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 セルロースを原料とし、水溶性オリゴ糖類を迅速かつ効率よく製造する方法、及びセルロースを原料とし、単糖類を短時間で高い収率で製造する方法を提供する。

【解決手段】 セルロース粉末を、200～300℃に加熱された加圧熱水と接触させて加水分解することにより、水溶性オリゴ糖類を製造するとともに、上記と同様にしてセルロースを加水分解したのち、酵素分解することにより、単糖類を製造する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 セルロース粉末を、200～300℃に加熱された加圧熱水と接触させて加水分解することを特徴とする水溶性オリゴ糖類の製造方法。

【請求項2】 セルロース粉末を、200～300℃に加熱された加圧熱水と接触させて加水分解したのち、さらに酵素分解することを特徴とする単糖類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、セルロースの加水分解により、機能性食品素材などとして有用な水溶性オリゴ糖類を効率よく製造する方法、及びこのオリゴ糖類を酵素分解して、高い収率で単糖類を製造する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】オリゴ糖は、単糖が複数個結合したもので、多糖に対して少糖ともいわれ、構成単糖の数が、通常2～6のものを示すが、最近では10以上のものもオリゴ糖ということがある。

【0003】このオリゴ糖には、1種類の単糖から構成されるホモオリゴ糖と、2種以上の単糖から構成されるヘテロオリゴ糖とがあり、また、グルコース分子の結合様式によって、マルトース型（還元性少糖）とトレハロース型（非還元性少糖）とに分けられている。

【0004】このようなオリゴ糖は、種々な生理活性を有し、機能性食品素材として注目されており、現在、フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、マルトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、大豆オリゴ糖などが、実用化されている。

【0005】これらのオリゴ糖は、各種原料に酵素を作用させることにより、製造されており、これらのオリゴ糖のうちフラクトオリゴ糖は、フルクトース（果糖）が2個以上連結した構造をもつ糖であって、ショ糖にフラクトース転移酵素を作用させることによって得られ、腸により働きを示すビフィズス菌を増殖させる効果を有している。また、ガラクトオリゴ糖は、乳糖（グルコースとガラクトースからなる二糖）にガラクトースが1～4分子結合したオリゴ糖であって、乳糖に β -ガラクトシダーゼを作用させることによって得られ、ビフィズス菌を増殖させる効果を有している。次に、マルトオリゴ糖は、グルコースが2～7個 α -1, 4-グルコシド結合で連結されたオリゴ糖であって、デンプンやアミロースにアミラーゼを作用させることによって得られ、保湿性に優れ、低甘味で低粘度の物性を有するため、各種デンプン質食品の物性改良剤などに、また高純度品は、血清中のアミラーゼ活性測定のための診断薬用基質として利用されている。イソマルトオリゴ糖は、直鎖の上記マルトオリゴ糖に対する名称で、 α -1, 4結合以外に、 α -1, 6結合、 α -1, 2結合、 α -1, 3結合などの結合方式をもったマルトオリゴ糖であって、ブドウ糖に

グルコアミラーゼを作用させることにより得られ、甘味特性、保湿性の他に、低う触性ビフィズス菌増殖作用を有している。

【0006】キシロオリゴ糖は、キシロースが β -1, 4結合で数個つながったオリゴ糖であって、ヘミセルロースの構成多糖（キシラン）を多量に含むもの（とうもろこし、綿の実など）にキシラン分解酵素を作用させることにより得られ、ショ糖に似た甘味があるが、エネルギー源として体内に吸収されない特性を有し、ダイエット食品用素材として有用である。一方、大豆オリゴ糖は、大豆より抽出した水可溶性糖類の総称で、ガラクトオリゴ糖及びショ糖が主成分であって、ビフィズス菌を増殖させる作用を有している。

【0007】このように、これまで実用化されているオリゴ糖類は、大豆オリゴ糖以外は、主として原料に酵素を作用させることによって製造されており、加圧熱水によるセルロースの加水分解により、オリゴ糖類を製造する方法はこれまで知られていない。

【0008】一方、セルロースからアルコール発酵の可能な単糖類を生産する方法としては、例えば酸加水分解法、酵素分解法及び腐朽菌による分解法などが知られている。しかしながら、酸加水分解法においては、反応器の腐食や廃液処理の問題があり、また酵素や腐朽菌による分解法においては、セルロースの強固な結晶構造のため、糖化速度が極めて遅いという欠点がある。したがって、後者の方法においては、セルロースの結晶構造を緩めるため、前処理として爆砕処理や摩砕処理が検討されているが、この場合、過分解による糖の損失やエネルギーを多量に消費するなどの問題が生じる。また、最近、超臨界状態若しくは亜臨界状態の水を用いてセルロースを加水分解処理し、単糖類のグルコースを生産する方法が提案されている。しかしながら、このような水熱処理のみでは、同時に起こる非発酵性成分の生成、及びグルコースの急速な二次分解のため、その生産収率は最大40%に留まっている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような事情のもとで、セルロースを原料とし、機能性食品素材などとして有用な水溶性オリゴ糖類を迅速かつ効率よく製造する方法、及びセルロースを原料とし、アルコール発酵可能な単糖類を、反応器の腐食や廃液処理の問題がなく、短時間で、かつ高い収率で製造する方法を提供することを目的としてなされたものである。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、セルロースからオリゴ糖類や単糖類を製造する方法について種々研究を重ねた結果、セルロース粉末を、特定温度に加熱された加圧熱水と短時間、接触させて加水分解することにより、水溶性オリゴ糖類が効率よく得られること、そしてさらにこのオリゴ糖類を含む加水分解生成物を酵素

分解することにより、セルロースから短時間、高収率で単糖類が得られることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0011】すなわち、本発明は、セルロース粉末を、200～300℃に加熱された加圧熱水と接触させて加水分解することを特徴とする水溶性オリゴ糖類の製造方法、及びセルロース粉末を、200～300℃に加熱された加圧熱水と接触させて加水分解したのち、さらに酵素分解することを特徴とする単糖類の製造方法を提供するものである。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明方法においては、原料としてセルロース粉末が用いられるが、このセルロースは、D-グルコピラノースがβ-1,4グルコシド結合で連なった繊維状高分子であって、各種植物体に含まれるが、本発明方法においては、その起源については関係なく、いかなる植物体から得られたものでもあってもよい。通常は、入手が容易なことから、木材セルロースを化学的及び機械的に処理して微粉化したものが用いられる。このセルロースは、平均粒子径が20～200μmの範囲の粉末として用いるのが、加水分解速度及び取り扱い性などの点から好ましい。

【0013】本発明の水溶性オリゴ糖類の製造方法においては、前記セルロース粉末を加圧熱水と接触させ、加水分解することにより、水溶性オリゴ糖類を生成させる。この際、反応形式としては特に制限はないが、例えば固定床型反応器にセルロース粉末を充填し、これに加圧熱水を連続的に通水して、セルロースを加水分解し、生成した水溶性オリゴ糖類を熱水と共に系外へ流出させる反応形式が好適である。

【0014】この際、加圧熱水としては200～300℃の温度に加熱されたものをを用いることが必要である。この温度が200℃未満では、加水分解速度が遅すぎて実用的でないし、300℃を超えるとフルフラールなどの二次加水分解物の生成量が多くなって、オリゴ糖類の生成量はそれほど増加せず、むしろ反応装置面やエネルギー消費面から経済的に不利となる。加水分解速度、水溶性オリゴ糖の生成量及び経済性などを考慮すると、この加圧熱水の温度は240～280℃の範囲が好ましい。

【0015】また、セルロース粉末と加圧熱水の接触時間は原料セルロースの分子量や結晶化度によって異なるが、加圧熱水の温度が高いほど短かくてよい。通常加圧熱水が240～280℃の範囲であれば1～5分程度であり、これよりも温度が低ければ5分よりも長くなるし、これよりも温度が高くなれば1分よりも短くなる。ただし、熱水を流通させる固定床型反応器を用いた場合、生成した水溶性オリゴ糖を反応系外に追い出すために、さらに数分間の通水が必要になる。

【0016】反応器から流出した熱水は、その中に含ま

れる水溶性オリゴ糖類の二次分解を抑制するために、直ちに冷却するのが望ましい。また、反応器内の圧力は、熱水が反応器内で液体状態を保持するように、反応温度の飽和蒸気圧以上に維持される。

【0017】このようにして、セルロースの加水分解処理により、水溶性オリゴ糖類が短時間で、高い収率で生成する。この際、少量の単糖類及びフルフラールなどが副生する。生成した水溶性オリゴ糖類は、水溶液から常法に従って単離し、精製することにより、機能性食品素材などとして利用することができる。

【0018】次に、本発明の単糖類の製造方法について説明する。この方法においては、前記のようにして、セルロースの加水分解処理により得られた水溶性オリゴ糖類を主体とする加水分解生成物に酵素を作用させ、さらに加水分解して単糖類を製造する。この際、該加水分解生成物の使用形態としては、反応器から流出した水溶性オリゴ糖類を含む水溶液であってもよいし、その濃縮物又は蒸発乾固物であってもよい。

【0019】また、酵素としては、通常加水分解酵素であるセルラーゼが用いられる。酵素分解方法としては、従来セルラーゼを用いる酵素分解で慣用されている方法を用いることができ、回分式を採用してもよいし、固定化酵素を素子とするバイオリアクターによる連続式を採用してもよい。また、この酵素分解は、使用する酵素の至適温度及び至適pH近傍の条件で実施するのが有利である。

【0020】このような酵素分解処理により、固体のセルロースと異なり、水に溶解しているオリゴ糖類は酵素と有効に接触できるため、単糖化が迅速に進行し、単糖類が効率よく生成する。

【0021】次に添付図面に従って本発明方法の製造工程を説明する。図1は、セルロースから水溶性オリゴ糖類を製造する工程を示す系統図である。まず、試料のセルロース粉末が流出しないように、両端を金属製焼結フィルターでキャップし、かつ周囲に保温用ヒーター6が設けられた固定床型反応器7に、セルロース粉末を仕込み、また予熱コイル4内に、水槽1a中の蒸留水をポンプ2aによって満たす。次いで、保圧弁9を系内の圧が所定値になるように設定したのち、予熱コイル4内の水が突沸しないようにバルブ3aを閉じたのち、バルブ3b及び3cを開いて、窒素ボンベ11より窒素ガスを送って系内を加圧する。次いで、バルブ3b及び3cを閉じたのち、バルブ3aを開き、所定温度に加熱しておいた予熱用塩浴5をジャッキ15で上昇させ、予熱コイル4をこの中に浸して、内部の水を加熱する。

【0022】次に、水槽1aからポンプ2aにより蒸留水を供給し、反応器7の直下部に装備された熱電対13で測定される温度が急上昇を始めた時点で、水槽1bから反応を終結させるための冷却用蒸留水を、ポンプ2bを用いて流し始める。この冷却水は、反応器上部から流

10

20

30

40

50

出してきた熱水と直接接して、該熱水を急冷し、その混合水は冷却器8においてさらに30℃付近まで冷却されたのち、保圧弁9を通過し、受器10に流入する。系内の圧力が所定値に達し、保圧弁9から水が流出し始めた時点を実験開始時間とし、一定時間毎に受器10に分解生成物を回収する。なお、図1において、12a及び12bは圧力計であり、14は圧力計12aで示される圧力及び熱電対13で示される温度の記録計である。

【0023】

【発明の効果】本発明方法によれば、セルロースを原料とし、機能性食品素材などとして有用な水溶性オリゴ糖類を迅速かつ効率よく製造することができる。また、セルロースを原料とし、アルコール発酵可能な単糖類を、反応器の腐食や廃液処理の問題なしに、短時間、かつ高い収率で製造することができる。

【0024】

【実施例】次に、本発明を実施例により、さらに詳細に説明するが、本発明は、これらの例によってなんら限定されるものではない。

【0025】実施例1

図1において、反応器7として、両端を孔径5μmの銀めっきされたニッケル製焼結フィルター（孔径5μm）でキャップした内容積3.6mlのステンレス鋼製固定床型反応器を用い、この中に粒子径100~120μmの微結晶セルロース粉末1.5gを仕込み、系内の圧力を9.8MPaに設定し、次いで窒素ボンベより窒素ガス1.9MPaを送って加圧したのち、蒸留水9.5ml/分を供給して反応を行わせた。反応器上部から流出してきた熱水を2.2ml/分で送られる冷却水と接触させて急冷したのち、さらに冷却器で30℃付近まで冷却した。系内の圧力が9.8MPaに達し、保圧弁から水が流出し始めたときを基準として、一定間隔で生成物を回収し、その中の水可溶分と単糖類を定量した。加圧熱水の温度を260℃としたときの結果をグラフとして図2に示した。図2において、曲線Aは水可溶分生成量、曲線Bはその中の単糖類生成量である。

【0026】図3は、水可溶分的高速液体クロマトグラムであり、この図で示されるように、水可溶分はオリゴ糖類（図3の5~10）、単糖類（11）及びフルフラールなどの若干の糖の二次分解物（12、13）から構成されている。したがって、図2の水可溶分中の単糖類以外は、大部分がオリゴ糖類である。これにより、固定床型反応器にセルロース粉末を充填し、これに加圧熱水を通し、生成した水可溶分を抜き出し、ただちに冷却して二次分解を抑えることにより、オリゴ糖類が高収率で得られることが示された。

【0027】図4は、水可溶分の生成速度に及ぼす加熱温度の影響を示すグラフである。この図から、240℃以上の加熱によって生成速度は著しく増大するが、300℃を超える加熱は必要でないことが分かる。また、加

熱温度の上昇は、反応速度を増大させるが、同時にフルフラールなどの二次分解物の生成量も増大するため、オリゴ糖類を生成するための加熱温度としては240~280℃の範囲が好ましい。この装置では、反応器下部に配置した熱電対によって測定される加圧熱水の温度が設定温度に到達するのに約5分を要したが、240~280℃の加圧熱水であれば、最大20分間の流通でセルロースはほとんど水可溶化される。

【0028】実施例2

実施例1で得られた水可溶分を含む水溶液中の水分を、減圧蒸留で留去して乾燥試料を調製し、酵素分解用試料として用いた。pH4.5のクエン酸緩衝液を用い、酵素分解用試料濃度15mg/mlの水溶液を調製し、この中から1mlを取り出し、50℃に保持した反応セルに移した。これに、同じクエン酸緩衝液で調製した濃度200mg/mlのセルラーゼ懸濁液0.1mlを加え、酵素分解を開始させた。

【0029】反応セル内から、一定時間毎に0.1mlずつ試料液をサンプリングし、あらかじめ0.2N-NaOH水溶液0.1mlを入れておいたサンプリング管内に注入して、酵素反応を失活させた。その後、0.2N-HCl水溶液0.1mlを加えて中和したのち、懸濁液を遠心分離して上澄液を採取し、さらにイオン交換水で3倍に希釈後、高速液体クロマトグラフィー法により分析して、生成した単糖類のグルコース量を求めた。

【0030】図5に、260℃の加圧熱水処理で得られた水可溶分の酵素分解反応によるグルコース生成実験結果を示す。なお、酵素分解処理前の水可溶分中には、図3に示すようにすでにグルコースが一部生成しているため、ここでは、サンプリング液中のグルコース量から初期のグルコース量を差し引き、酵素分解処理のみによって生成したグルコース量と酵素分解時間との関係をプロットし、曲線Aで示した。また、比較のために二糖のセロビオースの酵素分解の結果を曲線B、未処理セルロースの酵素分解の結果を曲線Cで示した。

【0031】この図5から分かるように、本処理で得られた水可溶分からのグルコース生成速度（曲線A）は、未処理セルロースのグルコース生成速度（曲線C）と比較するとかなり速く、二糖のセロビオースのグルコース生成速度（曲線B）に近いものであった。

【0032】本発明によれば、実施例1で示したように、セルロースを短時間で高収率に水溶性オリゴ糖類に転化することができ、また、そのオリゴ糖類を含む水可溶分は、酵素分解処理によって、速やかに単糖化されることが分かった。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明方法の製造工程を示す系統図。

【図2】 実施例1における加熱時間と水可溶分収率及び単糖類収率との関係を示すグラフ。

【図3】 実施例1における水可溶分的高速液体クロマ

トグラム。

【図4】 実施例1の各加熱温度における加熱時間と水可溶分収率との関係を示すグラフ。

【図5】 実施例2の各原料における酵素分解時間とグルコース生成率との関係を示すグラフ。

【符号の説明】

1 a, 1 b 水槽

2 a, 2 b ポンプ

3 a, 3 b, 3 c バルブ

4 予熱コイル

5 予熱用塩浴

* 6 保温用ヒーター

7 反応器

8 冷却器

9 保圧弁

10 受器

11 窒素ボンベ

12 a, 12 b 圧力計

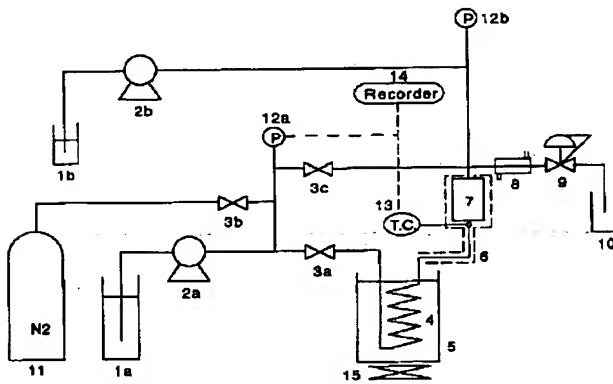
13 熱電対

14 記録計

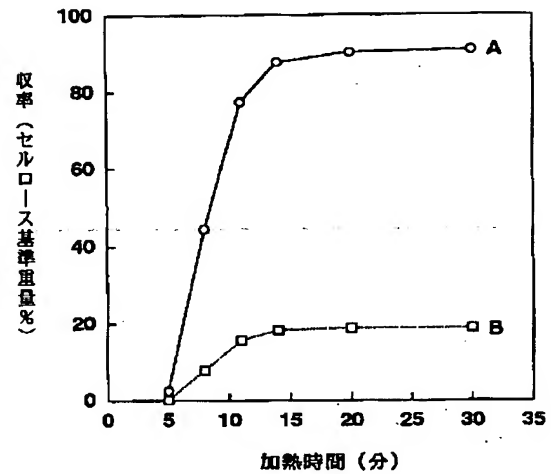
10 15 ジャッキ

*

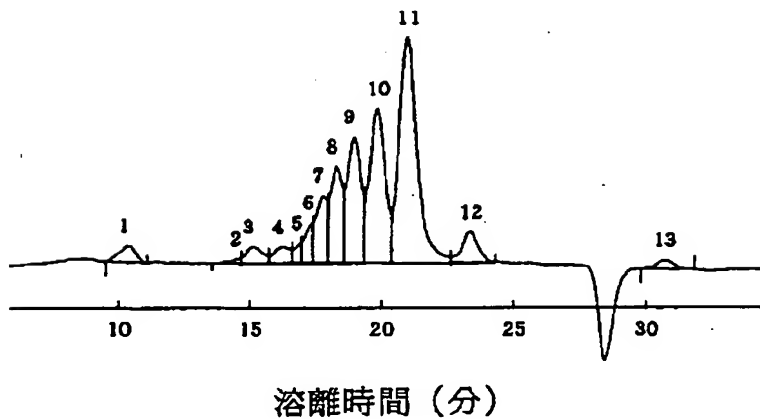
【図1】



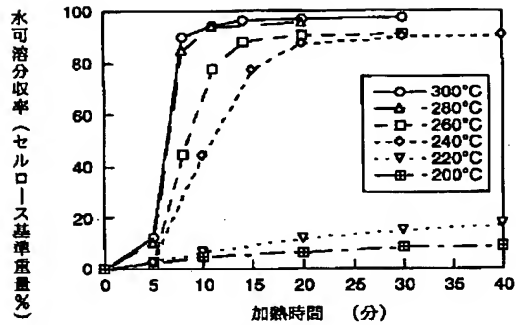
【図2】



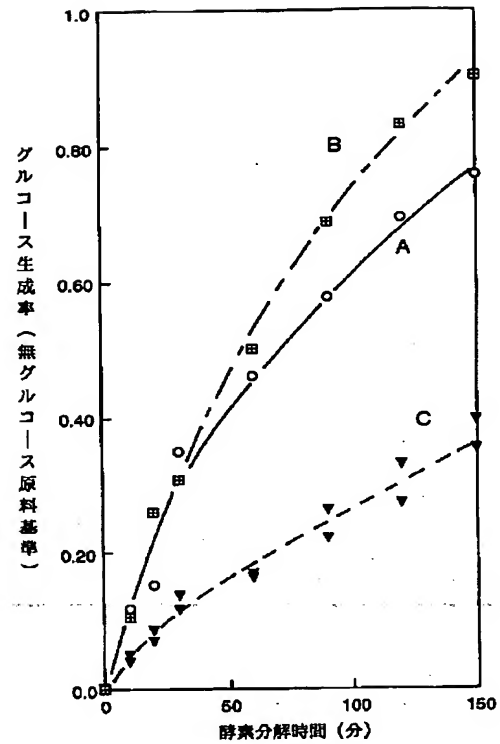
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(71)出願人 597085969
三木 敏晴
佐賀県鳥栖市布津原町69-1 九工研宿舍
B-6号

(71)出願人 597085970
廣末 英晴
福岡県筑紫野市上古賀73-8

(72)発明者 坂木 剛
佐賀県鳥栖市本町2-63-8
(72)発明者 柴田 昌男
福岡県小郡市小郡418-1 D-105

(72)発明者 三木 敏晴
佐賀県鳥栖市布津原町69-1 九工研宿舍
B-6号

(72)発明者 廣末 英晴
福岡県筑紫野市上古賀73-8